

Lípidos estructurados obtenidos por interesterificación química y enzimática a partir de aceite de pescado y grasa de palmiste

Por Oscar Díaz Gamboa y Luiz Antonio Gioielli*

Departamento de Tecnología Bioquímico-Farmacéutica
Facultad de Ciencias Farmacéuticas - Universidad de São Paulo
Caixa Postal 66083, CEP 05315-970. São Paulo, SP, Brasil.
e-mail: lagio@usp.br

RESUMEN

Lípidos estructurados obtenidos por interesterificación química y enzimática a partir de aceite de pescado y grasa de palmiste.

A través de los lípidos estructurados es posible obtener ácidos grasos para fines nutritivos y terapéuticos, usados en enfermedades específicas o en condiciones metabólicas anormales. Los lípidos estructurados, también pueden ser sintetizados para mejorar o alterar las características físicas y/o químicas de los triacilglicerolos. El objetivo del trabajo fue obtener lípidos estructurados por interesterificación química y enzimática a partir de grasa de palmiste y aceite de pescado. Fueron estudiadas seis muestras, representadas por dos muestras individuales y cuatro mezclas binarias. Las muestras fueron analizadas en cuanto el contenido de grasa sólida en la faja de temperaturas de 10 a 30°C. Se aplicó un modelo de regresión múltiple del tipo cuadrático. Fueron obtenidos lípidos estructurados que presentaron un comportamiento físico plástico, aumentando sus características de aplicación. Los resultados obtenidos en la interesterificación química como en la enzimática demostraron que el contenido de grasa sólida dependió de la grasa de palmiste y de las interacciones entre los componentes de las mezclas. Los coeficientes negativos para el contenido de grasa sólida mostraron efecto antagónico, que es característico de las interacciones eutécticas entre las grasas. No hubo mucha diferencia de contenido de grasa sólida entre la interesterificación química y enzimática de la grasa de palmiste y aceite de pescado.

PALABRAS-CLAVE: Aceite de pescado - Contenido de grasa sólida - Grasa de palmiste - Lípidos estructurados - Mezclas binarias.

SUMMARY

Structured lipids obtained by chemical and enzymatic interesterification from fish oil and palm kernel fat.

Through the structured lipids is possible to obtain fatty acids which are used as nourishings or therapeutics on specific diseases or on abnormal metabolic conditions. They are also synthesized to improve or alter the physic and/or chemical characteristics of the triacylglycerols. The objective of this study was to obtain structured lipids by chemical and enzymatic interesterification from palm kernel fat and fish oil. The samples were analyzed for the solid fat content at the temperatures from 10 to 30°C. A mathematical model of multiple regression of the quadratic type was applied. The solid fat content depended on the palm kernel fat and on the binary interactions between palm kernel fat and fish oil. The negative coefficients to the solid fat content showed an antagonistic effect, which is characteristic of eutectic interactions between fats. The solid fat content after chemical and enzymatic interesterification was very similar.

KEY-WORDS: Binary mixtures - Fish oil - Palm kernel fat - Solid fat content - Structured lipids.

1. INTRODUCCIÓN

Una alimentación rica en grasas saturadas puede provocar enfermedades cardiovasculares, que son la principal causa de muerte en el Brasil, representando cerca del 40% de las muertes de personas con mas de 45 años, de acuerdo con la estadística anual de la Organización Mundial de salud (Lievense, 1999).

Con todo, recientemente se ha verificado que el consumo de ciertos aceites y grasas tienen efectos positivos en la salud y prevención de enfermedades, en niños y adultos (Willis y Marangoni, 1999). Los alimentos funcionales, de los cuales los lípidos estructurados forman parte, son alimentos o ingredientes que pueden proporcionar un efecto benéfico para la salud, además de los nutrientes básicos que ellos contienen (Hasler, 1998). Los lípidos estructurados pueden ser definidos como triacilglicerolos reestructurados o modificados para alterar la composición de ácidos grasos y/o su distribución en las moléculas de glicerol, por métodos químicos o enzimáticos (Lee y Akoh, 1998). Aunque la mayoría de los lípidos estructurados son utilizados, en la actualidad, para aplicaciones médicas, algunos están siendo utilizados en alimentos, como productos de confitería y chocolates (Haumann, 1997).

La literatura actual presenta diversos trabajos direccionados a la obtención y caracterización de lípidos estructurados conteniendo aceite de pescado o ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga n-3 (Xu *et al.*, 1998, 1998a, 2000, 2000a; Lee y Akoh, 1998; Jennings y Akoh, 1999; 2001; Schmid *et al.*, 1998; Iwasaki *et al.*, 1999; Senanayake y Shahidi, 1999; Osorio *et al.*, 2001; Zhou *et al.*, 2000; Akoh y Moussata, 2001; Haraldsson *et al.*, 2000; Druschky y Pscheidl, 2000; Yankah y Akoh, 2000; Irimescu *et al.*, 2001). Con todo, existe poca información sobre las propiedades físicas de los lípidos estructurados obtenidos.

Lee *et al.* (1998) realizaron estudio sobre la caracterización de lípidos estructurados (SL) conteniendo ácidos eicosapentaenóico, docosahexaenóico y caprílico, que fueron sintetizados por interesterificación enzimática. El biocalizador utilizado fue la lipasa

inmovilizada SP 435. Las condiciones de la reacción fueron: temperatura de 55°C; agitación a 200 rpm; proporción molar del sustrato de 1:2; tiempo de residencia de 24 h; cantidad de enzima de 10%. Los autores obtuvieron 44.9% de SL incorporados en los TAG y específicamente 34.8% de EPA y DHA en la posición sn-2. Los productos fueron analizados en cuanto a composición de ácidos grasos, ácidos grasos presentes en la posición sn-2, contenido de ácidos grasos libres, estabilidad oxidativa, índice de iodo, índice de saponificación y índice de peróxidos.

Nieto *et al.* (1999) estudiaron la síntesis de triacilglicéridos estructurados conteniendo ácidos grasos de cadena media y larga por interesterificación enzimática con una lipasa estereoespecífica proveniente de *Mucor miehei*. El estudio consistió en la preparación de triacilglicéridos estructurados sn-1, sn-3 dilauril, sn-2 eicosapentaenoil glicerol y sn-1, sn-3 dilauril, sn-2 docosahexaenoil glicerol por interesterificación sobre restricta disponibilidad de agua. La interesterificación fue realizada en reactor de vidrio con camisa de agua y los triacilglicéridos producidos fueron separados y recuperados através de cromatografía en columna con óxido de aluminio. Este proceso de interesterificación permitió obtener triacilglicéridos estructurados en escala laboratorial conteniendo AGCM en las posiciones sn-1 y sn-3 y ácidos grasos poliinsaturados de origen marino en la posición sn-2 del glicerol.

Iwasaki *et al.* (1999) estudiaron la síntesis de lípidos estructurados (SL) utilizando como materias primas ácidos grasos poliinsaturados de pescado docosahexaenoico (DHA) y docosapentaenoico (DPA), y ácido caprílico (AC), através de la acidólisis enzimática. Fueron empleados lipasas de *Rhizomucor miehei* (RML) y de *Pseudomonas sp* KWI-56 (PSL). Ellas fueron comparadas en cuanto a la preferencia del grupo acil y a la especificidad. Los resultados mostraron que através de la enzima PSL se obtuvo 36% de triacilglicéridos (TAG) conteniendo dos AC y un DHA o DPA, además un isómero con un ácido graso insaturado en la posición sn-2, que representó 77-78%. En el caso de la enzima RML, el contenido de AC en el triacilglicerol fue de 23% y se obtuvo 22% de TAG con la configuración deseada. Estos datos sugirieron que la diferencia en el grado de acidólisis por las dos enzimas fue debida a sus selectividades y especificidades. Los productos fueron analizados en cuanto a composición de ácidos grasos y de triacilglicéridos.

Xu *et al.* (2000) estudiaron la aplicación del reactor de membranas en la producción de lípidos estructurados (SL) por interesterificación enzimática a partir de triacilglicéridos de cadena media (MCT) con ácidos grasos poliinsaturados n-3 (PUFA) provenientes del aceite de pescado. El biocatalizador utilizado fue la lipasa LIPOZYME IM. El estudio fue realizado sobre las siguientes condiciones: agitación a 300-

400 rpm; temperatura de 60°C; proporción molar del sustrato de 2:1 (definida como PUFA/2MCT); cantidad de enzima de 5%; y contenido de agua de 7,2% (en relación a la enzima). La incorporación de PUFA en los MCT fue incrementada en aproximadamente 15% en 90 horas de reacción. Los productos fueron analizados en su composición de ácidos grasos y composición en triacilglicéridos.

El objetivo del trabajo fue obtener lípidos estructurados por interesterificación química y enzimática a partir de grasa de palmiste y aceite de pescado.

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1. Material

Aceite refinado de pescado: OmegaVit EPA, proporcionado por la empresa BASF (São Paulo, SP, Brazil). Es un aceite natural de una variedad de pescados, refinado, desodorizado y estabilizado con tocoferol, conteniendo EPA (17%), DHA (11%), otros n-3 PUFAs (5%), otros PUFAs (12%) y MUFAs (24%), según especificación del fabricante.

Grasa de palmiste: proporcionado por la empresa Agropalma S.A. (São Paulo, SP, Brazil).

2.2. Mezcla e interesterificación

Para el estudio de las interacciones en mezclas binarias de grasas se realizó una planificación de 6 experimentos (Tabla I). La grasa de palmiste y el aceite de pescado son representadas por x_1 y x_2 , respectivamente, siendo que $x_1 + x_2 = 1$ o 100%. Dos muestras representan los componentes aisladamente y cuatro son formadas por mezclas binarias. Las muestras, después de haber sido completamente fundidas a la temperatura de 60-70°C fueron preparadas por mezclas siguiendo el esquema de la Tabla I, y luego fueron solidificadas almacenándolas bajo refrigeración.

Se aplicó un modelo de regresión múltiple del tipo cuadrático, para mezclas de aceites y grasas, representado por la siguiente ecuación (Hare, 1974):

$$Y = \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_{12} x_1 x_2$$

Donde:

Y = respuesta;

β = coeficientes generados por regresión múltiple;

x = proporción de los componentes

Se utilizó el programa Statgraphics versión 2.6 que generó los coeficientes para el modelo, además de presentar sus niveles de significación, coeficientes de determinación y análisis de variancia.

Para la interesterificación química, las muestras fueron previamente fundidas en horno de microondas. A seguir, 320 g de cada muestra fueron calenta-

Tabla I
Planificación experimental de las mezclas

Muestras (n°)	Componentes (p/p)	
	X ₁	X ₂
1	1	0
2	4/5	1/5
3	3/5	2/5
4	2/5	3/5
5	1/5	4/5
6	0	1

Donde:

X₁ = grasa de palmiste;

X₂ = aceite de pescado

das en evaporador rotativo durante 60 min en un balón de 250 mL, a la temperatura entre 90-95°C, sobre presión reducida (56mm de Hg) proporcionada por una bomba al vacío, para la remoción de trazas de humedad del material. Después, la muestra fue transferida para un balón de tres bocas de 250 mL. El sistema fue enfriado a 60°C, y luego se adicionó el catalizador metóxido de sodio en la proporción de 0,4%. Inmediatamente antes de la adición del catalizador se retiró una muestra inicial, el cual sirvió para disolver el metóxido de sodio. Después de un período de 60 minutos de reacción, sobre agitación y presión reducida, se adicionó agua destilada para inactivar al catalizador, manteniendo la agitación por tres minutos más. La muestra caliente interesterificada fue entonces filtrada al vacío, sobre sulfato de sodio y kieselgur. La filtración tuvo por finalidad la retención de humedad y la remoción de jabones y compuestos oscuros formados.

El catalizador metóxido de sodio fue preparado por la evaporación del metanol de una solución comercial de metóxido de sodio a 30%. El producto seco fue triturado en mortero de vidrio. Para facilitar la dispersión del catalizador, éste fue pre-mezclado con la porción de la muestra que fue retirada como está mencionado arriba, siendo entonces adicionado lo restante, sobre agitación (Gioielli y Baruffaldi, 1987; 1988; D'Agostini *et al.*, 2001; Sotero Solis *et al.*, 2001).

La interesterificación enzimática fue catalizada por la enzima inmovilizada de *Rhizomucor miehei*. Las muestras fueron previamente fundidas en el horno de microondas hasta su completa fusión de los cristales. A continuación se colocaron 160g de cada muestra en un balón de tres bocas de 250 mL. Antes de la adición de la enzima, fue adicionada a las muestras agua destilada en la proporción de 0,3%. La enzima fue utilizada en la proporción de 5%. La reacción fue realizada por período de 6 horas a la temperatura de 65°C, sobre agitación y manteniendo

el sistema en atmósfera de nitrógeno. Después de la reacción, las partículas del catalizador fueron retiradas por filtración (Gioielli *et al.*, 1994)

2.3. Contenido de grasa sólida

La determinación fue realizada según la AOCS (1996), método Cd 16b-93. Fue utilizado el método directo, siendo que las lecturas de las muestras fueron hechas en serie en las temperaturas de 10, 15, 20, 25 y 30°C. El equipamiento utilizado fue el Espectrómetro de Resonancia Magnética Nuclear Maran Ultra Benchtop, de 20 MHz.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La composición de los ácidos grasos de las muestras fue citada en el trabajo anterior (Díaz Gamboa y Gioielli, 2003).

Las Tablas II, III y IV presentan los datos del contenido de grasa sólida en función de la temperatura antes y después de la interesterificación química y enzimática, representando la media de dos determinaciones.

Los resultados obtenidos indicaron que, antes de la interesterificación, el aceite de pescado (muestra 6), por ser líquido, no presentó contenido de grasa sólida en ninguna temperatura. En tanto, después de la interesterificación química y enzimática, se observó que el aceite de pescado pasó a presentarse parcialmente en el estado sólido. Para las muestras 1 (grasa de palmiste), 2 y 3, el contenido de grasa sólida disminuyó después de la interesterificación. Lo mismo fue observado por D'Agostini *et al.* (2001a) y Grimaldi *et al.* (2001) para la grasa de palmiste. Por otro lado, para la muestra 5 en todas las temperaturas, el contenido de grasa sólida aumentó en relación a la grasa no interesterificada.

Las alteraciones de grasa sólida en función de la interesterificación química y enzimática son resultados de las variaciones de los contenidos de triacilgli-

Tabla II
Contenido de grasa sólida de las muestras en función de la temperatura, antes de la interesterificación

Temperatura (°C)	Contenido de grasa sólida (%)					
	Muestra (n ^o)					
	1	2	3	4	5	6
10	70.2	52.4	36.8	21.1	6.4	0
15	61.4	43.3	26.2	11.7	1.9	-
20	44.6	27.9	13.7	3.7	0	-
25	21.3	9.2	0.9	0	-	-
30	0	0	0	-	-	-

Tabla III
Contenido de grasa sólida de las muestras en función de la temperatura, después de la interesterificación química

Temperatura (°C)	Contenido de grasa sólida (%)					
	Muestra (n ^o)					
	1	2	3	4	5	6
10	68.9	45.8	28.1	16.6	8.9	5.3
15	55.0	33.4	19.1	10.8	5.7	3.2
20	35.0	18.8	10.1	6.2	2.9	1.7
25	11.1	4.7	1.2	1.4	0.3	0.3
30	0	0	0	0	0	0

Tabla IV
Contenido de grasa sólida de las muestras en función de la temperatura, después de la interesterificación enzimática

Temperatura (°C)	Contenido de grasa sólida (%)					
	Muestra (n ^o)					
	1	2	3	4	5	6
10	66.8	45.4	27.9	16.2	8.9	5.4
15	48.8	30.4	16.8	9.1	5.1	3.6
20	26.1	14.3	6.6	3.6	1.9	1.5
25	3.7	0.6	0	0	0	0
30	0	0	-	-	-	-

céridos trisaturados y disaturados (Hoffmann, 1989; Wiedermann, 1978; Bessler y Orthoefer, 1983). Asimismo la reacción de interesterificación está acompañada por la formación de diacilgliceroles y ácidos grasos libres en el sistema, de tal manera que estos tienen gran influencia en el contenido de grasa sólida en el producto final (Zhang *et al.*, 2000).

De acuerdo con Lida y Ali (1998), el contenido de grasa sólida entre 4 y 10°C determina la facilidad del esparcimiento de un producto grasoso a la temperatura de refrigeración. Un contenido de sólidos no superior a 32% a la temperatura de 10°C es imprescindible para garantizar una performance ideal de esparcimiento a la temperatura de refrigeración. Según estos mismos autores, el contenido de sólidos a 20 y 22°C permite determinar la estabilidad del producto y su resistencia contra el efecto de exudación de los aceites. De esta forma, el contenido ideal no debe ser inferior a 10%. La grasa de palmiste es extremadamente dura a la temperatura de refrigeración, apesar de tener bajo punto de fusión (cerca de 28°C). La grasa de palmiste interesterificada por vía química y enzimática presentó contenido de grasa sólida a la temperatura de 10°C bastante superior a 32%, indicando que no posee un performance ideal de esparcimiento a la temperatura de refrigeración. Los lípidos estructurados de la interesterificación química y enzimática correspondientes a la muestra n° 2, acim de 15°C, y la muestra n° 3, en el rango de temperaturas de 10 a 20°C, presentaron contenido de grasa sólida inferior a 32%, lo cual permite un esparcimiento óptimo a la temperatura de refrigeración. Según los rangos de contenido de grasa sólida para margarinas cremosas de uso doméstico, establecidos por Hoffmann (1989), los resultados para las muestras mencionadas, cumplen los requisitos, estando entre las características de margarinas cremosas. En cuanto las muestras n° 4 y 5, puede ser recomendado para la elaboración de margarinas líquidas, pues contienen bajo contenido de grasa sólida en todo el rango de temperaturas.

Deman *et al.* (1979) relataron que el esparcimiento de margarinas es un aspecto importante en relación a la aceptación de estos productos por el consumidor. El esparcimiento es una propiedad física y resulta del hecho que estos productos consisten en una dispersión de cristales de grasa sólida en aceite líquido. Siendo altamente relacionada a la dureza, la mayoría de los métodos de determinación del esparcimiento mide la resistencia a la deformación, o sea, la dureza.

De esta forma, este trabajo presenta una alternativa de transformar estas grasas láuricas esparcibles, al interesterificar por vía química o enzimática con aceite de pescado, que posee ácidos grasos poliinsaturados de bajo punto de fusión, siendo ejemplos de mejora del esparcimiento de la grasa de palmiste por la mezcla con aceite de pescado y pos-

terior interesterificación. Marangoni y Rousseau (1998) también comprobaron que la interesterificación química y enzimática de grasa de leche con aceite de canola mejoró la esparciabilidad, con relación a la grasa de leche original.

Comparando los resultados provenientes de la interesterificación por vías química y enzimática, se comprobó, de modo general, que el contenido de grasa sólida después de la interesterificación enzimática fue inferior al obtenido por la interesterificación química. Estos mismos resultados fueron obtenidos por Marangoni y Rousseau (1998) al evaluar la interesterificación química y enzimática de la grasa de leche. Con todo, los resultados mostraron que no hubo mucha diferencia entre los procesos de interesterificación química y enzimática al evaluar el contenido de grasa sólida de la grasa de palmiste, del aceite de pescado y sus misturas (la diferencia media fue de 6,2% para la muestra 1, 3% para la muestra 2, 1,8% para la muestra 3, 1,5% para la muestra 4, 0,5% para la muestra 5 y 0,3% para la muestra 6). Una posible explicación para esto, puede consistir en la migración acil en procesos discontinuos catalizados por lipasas, como el caso del presente trabajo. La migración acil es un serio problema en la interesterificación catalizada por lipasas. La razón para esta migración es la existencia de acilgliceroles parciales, especialmente diacilgliceroles, que son intermediarios necesarios y inevitables. Esta ocurre por la formación de un intermediario cíclico inestable, que es iniciada por el ataque nucleofílico de un par de electrones lo cual origina un anillo intermediario de cinco miembros. Este anillo da como resultado la división de dos productos, el diacilglicerol original y otro que presentó migración. La migración acil de la posición sn-2 se direcciona para las posiciones sn-1 o sn-3, el opuesto, ocurre del mismo modo y continúa hasta que el equilibrio dinámico sea alcanzado (Xu *et al.*, 1998). En reactores continuos, como el sustrato entra en contacto con grande cantidad de enzima, el tiempo de reacción es menor comparado con el reactor discontinuo, resultando menor migración acil. La migración acil es el principal problema en reactores discontinuos, lo cual da como resultado menor pureza de lípidos estructurados específicos, mismo que la lipasa sea sn-1,3 específica. La alta relación entre el sustrato y la enzima exige un período de tiempo mucho mayor para que la reacción alcance el equilibrio, lo que resulta consecuentemente en migración acil. El procesamiento continuo también permite la reutilización de la enzima inmovilizada y la reducción del costo (Mu *et al.*, 1998). En general, de acuerdo con Zhang *et al.*, (2000), productos provenientes de la interesterificación catalizada por Lipozyme IM presentaron propiedades similares a las de grasas utilizadas en la preparación de margarinas, obtenidas por interesterificación química.

Tabla V
Coeficientes calculados por regresión múltiple a partir de los resultados experimentales antes y después de la interesterificación química y enzimática

Contenido de grasa sólida	Coeficientes			
	β_1	β_2	β_{12}	R^2
Antes de la interesterificación				
10°C	70.80	0	-27.05	0.998
15°C	62.48	0	-49.20	0.998
20°C	45.08	0	-56.03	0.999
25°C	20.45	0	-41.83	0.969
Después de la interesterificación química				
10°C	68.56	5.68	-61.38	0.999
15°C	54.10	4.05	-59.06	0.998
20°C	34.19	0	-44.24	0.990
25°C	10.43	0	-18.57	0.955
Después de la interesterificación enzimática				
10°C	66.78	5.60	-58.17	0.999
15°C	48.39	4.17	-54.86	0.999
20°C	25.48	0	-36.16	0.994
25°C	3.23	0	-7.99	0.850

La Tabla V presenta los coeficientes (β) calculados por regresión múltiple a partir de los resultados experimentales del contenido de grasa sólida antes y después de la interesterificación química y enzimática. Los coeficientes no significativos ($p > 0,05$) fueron eliminados. Comparando estos resultados observamos que el contenido de grasa sólida dependió de la grasa de palmiste, antes y después de la interesterificación química y enzimática, del aceite de pescado interesterificado (a 10 y 15°C) y de la interacción entre ellos. Antes de la interesterificación, el aceite de pescado, siendo el componente líquido, no contribuyó estadísticamente para el contenido de grasa sólida a cualquier temperatura. Los coeficientes negativos para la interacción entre la grasa de palmiste y el aceite de pescado demostraron un efecto antagónico, característico de las interacciones eutécticas entre las grasas. El efecto eutéctico después de la interesterificación química y enzimática fue mayor en las temperaturas de 10 y 15°C, porque el aceite de pescado interesterificado pasó a ejercer influencia en el contenido de grasa sólida a estas temperaturas. Por otro lado, a las temperaturas de 20 y 25°C el efecto eutéctico después de la interesterificación fue menor. Este efecto es resultado del reordenamiento de las moléculas de triacilglicérols de estos aceites, disminuyendo el efecto eutéctico (Gioielli y Baruffaldi, 1987; Hayati *et al.*, 2000). De acuerdo con D'Agostini *et al.* (2001) las interacciones que ocurren entre los triacilglicérols en las mezclas binarias y ternarias de aceites y grasas son los principales fac-

tores que influyen en el comportamiento de las materias grasas con respecto a sus propiedades físicas.

El efecto eutéctico entre la grasa de palmiste y el aceite de pescado también fue verificado al analizar la consistencia de las muestras (Díaz Gamboa y Gioielli, 2003).

4. CONCLUSIONES

Fueron obtenidos lípidos estructurados que presentaron un comportamiento físico plástico, aumentando sus características de aplicación. El contenido de grasa sólida dependió de la grasa de palmiste antes y después de la interesterificación química y enzimática y del aceite de pescado interesterificado a las temperaturas de 10 y 15°C. Los coeficientes relativos de las interacciones significativas entre las muestras fueron siempre negativos, demostrando efecto antagónico, característico de las interacciones eutécticas entre las grasas. No hubo mucha diferencia de contenido de grasa sólida entre la interesterificación química y enzimática de la grasa de palmiste y aceite de pescado.

AGRADECIMIENTOS

A la Fundación de Amparo a la Pesquisa del Estado de San Paulo – FAPESP, al Consejo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico – CNPq y a la Coordinación de Aperfeccionamiento del Personal

de Nivel Superior – CAPES, por la ayuda financiera y por las becas concedidas a los autores.

BIBLIOGRAFIA

- Akoh, C.C. y Moussata, C.O. (2001). Characterization and oxidative stability of enzymatically produced fish and canola oil-based structured lipids. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **78**, 25-30.
- American Oil Chemist's Society. (1996). *Official methods and recommended practices of the AOCS*. 5 ed. AOCS, Champaign.
- Bessler, T.R. y Orthoefer, F.T. (1983). Providing lubricity in food fat systems. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **60**, 1765-1768.
- D'Agostini, D., Ferraz, R.C., Sotero Solis, V.E. y Gioielli, L.A. (2001). Contenido de grasa sólida de las mezclas binarias y ternarias de aceite de palma, aceite de semilla de palma y triacilglicerol de cadena media. *Alimentaria*, **38**, 47-53.
- D'Agostini, D., Ferraz, R.C., Gioielli, L.A. y Sotero Solis, V.E. (2001a). Lípidos estructurados obtenidos por interesterificación de las mezclas binarias y ternarias de las grasas de palma, semilla de palma y triglicéridos de cadena media. *Grasas Aceites*, **52**, 214-221.
- Demman, J.M., Dobbs, J.E., y Sherman, P. (1979). Spreadability of butter and margarine en *Food texture and rheology*, p.43-54, Sherman, P. (Ed.), Academic Press, London.
- Díaz Gamboa, O. y Gioielli, L.A. (2003). Consistencia de lípidos estructurados a partir de aceite de pescado y grasa de palmiste. *Grasas Aceites*, **54**, 122-129.
- Druschky, K. y Pscheidl, E. (2000). Different effects of chemically defined structured lipids containing omega-3 or omega-6 fatty acids on nitrogen retention and protein metabolism in endotoxemic rats. *Nutr. Res.* **20**, 1183-1192.
- Gioielli, L.A. y Baruffaldi, R. (1987). Interesterificação de gordura de babaçu e azeite de dendê: Influência nos pontos de fusão e de amolecimento e no índice de gordura sólida. *Rev. Farm. Bioquím. Univ. S. Paulo*, **23**, 41-51.
- Gioielli, L.A. y Baruffaldi, R. (1988). Acompanhamento da reação de interesterificação de gordura de babaçu e azeite de dendê. *Rev. Farm. Bioquím. Univ. S. Paulo*, **24**, 29-38.
- Gioielli, L.A., Pitombo, R.N.M., Vitolo, M., Baruffaldi, R., Oliveira, M.N. y Augusto, M.S. (1994). Acidolysis of babassu fat catalyzed by immobilized lipase. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **71**, 579-582.
- Grimaldi, R., Gonçalves, L.A.G., Gioielli, L.A. y Simões, I.S. (2001). Interactions in interesterified palm and palm kernel oils mixtures. I. Solid fat content and consistency. *Grasas Aceites*, **52**, 349-354.
- Hasler, C.M. (1998). Functional foods: their role in disease prevention and health promotion. *Food Technol.* **52**, 63-70.
- Haraldsson, G.G., Halldorsson, A. y Kulas, E. (2000). Chemoenzymatic synthesis of structured triacylglycerols containing eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **77**, 1139-1145.
- Hare, L. B. (1974). Mixture designs applied to food formulation. *Food Technol.* **28**, 50-62.
- Hayati, I.N., Aminah, A., Mamot, S., Aini, I.N., Lida, H.M.N. y Sabariah, S. (2000). Melting characteristic and solid fat content of milk fat and palm sterin blend before and after enzymatic interesterification. *J. Food Lipids*, **7**, 175-193.
- Haumann, B. F. (1997). Structured lipids allow fat formulation. *INFORM*, **8**, 1004-1011.
- Hoffmann, G. (1989). *The chemistry and technology of edible oils and fats and their high fat products*, p. 1-383, Academic Press, London.
- Irimescu, R., Furihata, K., Hata, K., Iwasaki, Y. y Yamane, T. (2001). Two-step enzymatic synthesis of docosahexaenoic acid-rich symmetrically structured triacylglycerols via 2-monoacylglycerols. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **78**, 743-748.
- Iwasaki, Y., Jeong, J. H., Narita, M., Rosu, R. y Yamane, T. (1999). Enzymatic synthesis of structured lipids from single cell oil of high docosahexaenoic acid content. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **76**, 563-569.
- Jennings, B.H. y Akoh, C.C. (1999). Enzymatic modification of triacylglycerols of high eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids content to produce structured lipids. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **76**, 1133-1137.
- Jennings, B.H. y Akoh, C.C. (2001). Lipase catalyzed modification of fish oil to incorporate capric acid. *Food Chem.* **72**, 273-278.
- Lievense, L. C. (1999). Plant sterols: A new way to effectively reduce cholesterol. En: I Seminário Internacional sobre Alimentos Funcionais, São Paulo, SP.
- Lee, K. T., Akoh, C. C. (1998). Solvent-free enzymatic synthesis of structured lipids from peanut oil and caprylic acid in a stirred tank batch reactor. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **75**, 1533-1537.
- Lee, K.T. y Akoh, C.C. (1998a). Characterization of enzymatically synthesized structured lipids containing eicosapentaenoic, docosahexaenoic, and caprylic acids. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **75**, 495-499.
- Lida, H.M.D.N. y Ali, A.R.M. (1998). Physicochemical characteristics of palm-based oil blends for the production of reduced fat spreads. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **75**, 1625-1631.
- Marangoni, A.G. y Rousseau, D. (1998). Chemical and enzymatic modification of butterfat and butterfat-canola oil blends. *Food Res. Int.* **31**, 595-599.
- Mu, H., Xu, X., Hoy, C. E. (1998). Production of specific-structured triacylglycerols by lipase-catalyzed interesterification in a laboratory-scale continuous reactor. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **75**, 1187-1193.
- Nieto, S., Sanhueza, J. y Valenzuela, A. (1999). Synthesis of structured triacylglycerols containing medium-chain and long-chain fatty acids by interesterification with a stereospecific lipase from *Mucor miehei*. *Grasas Aceites*, **50**, 199-202.
- Osorio, N.M., Ferreira-Dias, S. y Gusmão, J.H. (2001). Response surface modeling of the production of omega-3 polyunsaturated fatty acids-enriched fats by a commercial immobilized lipase. *J. Mol. Catal. B-Enzym.* **11**, 677-686.
- Schmid, U., Bornscheuer, U.T., Soumanou, M.M., McNeill, G.P. y Schmid, R.D. (1998). Optimization of the reaction conditions in the lipase-catalyzed synthesis of structured triglycerides. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **75**, 1527-1531.
- Senanayake, S.P.J.N. y Shahidi, F. (1999). Enzymatic incorporation of docosahexaenoic acid into borage oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **76**, 1009-1015.
- Sotero Solis, V.E., Gioielli, L.A. y Polakiewicz, B. (2001). Hidrogenación y interesterificación del aceite de castaña de Brasil (*Bertholletia excelsa*). *Grasas Aceites*, **52**, 192-197.

- Wiedermann, L.H. (1978). Margarine and margarine oil, formulation and control. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **55**, 823-829.
- Xu X., Balchen S., Hoy, C.E. y Adler-Nissen, J. (1998). Pilot batch production of specific-structured lipids by lipase-catalyzed interesterification: preliminary study on incorporation and acyl migration. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **75**, 301-308.
- Xu X., Balchen S., Hoy, C.E. y Adler-Nissen, J. (1998a). Production of specific-structured lipids by enzymatic interesterification in a pilot continuous enzyme bed reactor. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **75**, 1573-1579.
- Xu X., Balchen S., Jonsson G. y Adler-Nissen, J. (2000). Production of structured lipids by lipase-catalyzed interesterification in a flat membrane reactor. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **77**, 1035-1041.
- Xu, X.B., Skands, A., Jonsson, G. y Adler-Nissen, J. (2000a). Production of structured lipids by lipase-catalyzed interesterification in an ultrafiltration membrane reactor. *Biotechnol. Letters*, **22**, 1667-1671.
- Willis, W.M. y Marangoni, A.G. (1999). Assessment of lipase and chemically catalyzed lipid modification strategies for the production of structured lipids. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **76**, 443-450.
- Yankah, V.V. y Akoh, C.C. (2000). Batch enzymatic synthesis, characterization and oxidative stability of DHA-containing structured lipids. *J. Food Lipids*, **7**, 247-261.
- Zhang, H., Xu, X., Um, H., Nilsson, J., Adler-Nissen, J. y Hoy, C. (2000). Lipozyme IM-catalyzed interesterification for the production of margarine fats in a 1 kg scale stirred tank reactor. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **102**, 411-418.
- Zhou, D.Q., Xu, X.B. y Mu, L.H. (2000). Lipase-catalyzed production of structured lipids via acidolysis of fish oil with caprylic acid. *J. Food Lipids*, **7**, 263-274.

Recibido: Abril 2002
Aceptado: Diciembre 2002